

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号  
特表2003-506075  
(P2003-506075A)

(43) 公表日 平成15年2月18日 (2003.2.18)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>  
C 1 2 N 5/06

識別記号

F I  
C 1 2 N 5/00

テーマコード\* (参考)  
E 4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 31 頁)

(21) 出願番号 特願2001-515800(P2001-515800)  
(86) (22) 出願日 平成12年8月4日 (2000.8.4)  
(85) 翻訳文提出日 平成14年2月5日 (2002.2.5)  
(86) 国際出願番号 P C T / U S 0 0 / 2 1 3 8 7  
(87) 国際公開番号 W O 0 1 / 0 1 1 0 1 1  
(87) 国際公開日 平成13年2月15日 (2001.2.15)  
(31) 優先権主張番号 6 0 / 1 4 7 , 3 2 4  
(32) 優先日 平成11年8月5日 (1999.8.5)  
(33) 優先権主張国 米国 (U S)  
(31) 優先権主張番号 6 0 / 1 6 4 , 6 5 0  
(32) 優先日 平成11年11月10日 (1999.11.10)  
(33) 優先権主張国 米国 (U S)

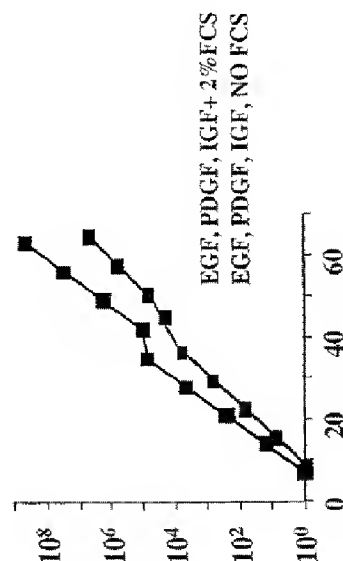
(71) 出願人 エムシーエル エルエルシー  
アメリカ合衆国 ミネソタ州 55405 ミ  
ネアポリス ウェスト トウェンティーフ  
ァースト ストリート 2100  
(72) 発明者 フルヒト, レオ ティー  
アメリカ合衆国 ミネソタ州 55405 ミ  
ネアポリス ウェスト トウェンティーフ  
ァースト ストリート 2100  
(72) 発明者 ヴァーフエイリー, キャセリン エム  
アメリカ合衆国 ミネソタ州 55116 セ  
イント ポール クレティン アヴェニュー  
ー サウス 585  
(74) 代理人 弁理士 柳田 征史 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 多能性成人幹細胞およびそれを単離する方法

(57) 【要約】

本発明は、培養中未分化状態を維持できる、または分化されて多様な組織型の細胞を形成することができる、非胚性臓器から単離された幹細胞を提供する。また、本発明は、そのような幹細胞を単離および培養する方法、ならびにそのような単離細胞の治療的使用を提供する。



**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 表面抗原CD44、CD45、ならびにHLAクラスIおよびII陰性であることを特徴とする単離された多能性哺乳類幹細胞。

【請求項2】 表面抗原CD34、CD44、CD45、ならびにHLAクラスIおよびII陰性であることを特徴とする請求項1記載の単離された細胞。

【請求項3】 表面抗原CD34、CD44、CD45、HLA-DR、Muc18、Stro-1、HLAクラスI陰性であり、かつOct3/4 mRNA陽性であることを特徴とする請求項2記載の単離された細胞。

【請求項4】 表面抗原CD34、CD44、CD45、HLA-DR、Muc18、Stro-1、HLAクラスI陰性であり、かつOct3/4 mRNAおよびhTERT mRNA陽性であることを特徴とする請求項3記載の単離された細胞。

【請求項5】 表面抗原CD31、CD34、CD36、CD38、CD45、CD50、CD62E、およびCD62P、HLA-DR、Muc18、Stro-1、cKit、Tie/Tek、CD44、HLAクラスI、および2-ミクログロブリン陰性であり、かつCD10、CD13、CD49b、CD49e、CDw90、Flk1、EGF-R、TGF-R1およびTGF-R2、BMP-R1A、PDGF-R1aおよびPDGF-R1b陽性であることを特徴とする請求項4記載の単離された細胞。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

本発明の一部は、Morayama Reyes に対する国立保健研究所／国立アレルギー感染症研究所からの助成（助成番号IF31-AI-Gn10291）を介して、米国政府の支援を受けた。

**【0002】****発明の分野**

本発明は、概して、幹細胞を単離する方法、その方法によって単離された幹細胞、およびそのような幹細胞の治療的使用に関する。さらに詳細には、本発明は、分化して様々な細胞系統の細胞を形成する能力を有する単離された骨髄由来前駆細胞、ならびにそのような細胞を単離する方法およびそのような方法によって単離された細胞の特異的分化を誘導する方法、さらにはタンパク質および転写因子のようなそれら細胞中に存在する特異的マーカーに関する。

**【0003】****発明の背景**

幹細胞からの臓器および組織の発生およびそれに続く移植は、多くの病状のための有望な治療法を提供し、従って、多くの分野において幹細胞を研究の中心とならしめた。移植用の臓器および組織の形成のために幹細胞を用いることは、2～3例挙げると、糖尿病、パーキンソン病、肝疾患、心疾患、および自己免疫疾患のための有望な代替的治療を提供する。しかしながら、臓器および組織の移植に関連する少なくとも2つの重要な問題がある。第1に、ドナー臓器および組織の不足がある。米国において移植のために必要とされる臓器のわずか5%がレシピエントに利用可能となる (Evans, et al., J.Am.Med.Assoc. (1992) 267: 239-146)。米国心臓病協会によると、1997年に新しい心臓を必要とする40,000人のアメリカ人の内、わずか2,300のみが心臓を受け取ることができ、さらに米国肝臓病基金は、肝不全によって毎年死亡するほぼ30,000人の患者のためのドナーは3,000人より少ないことを報告している。第2の重要な問題は、移植される組織とレシピエントの免疫系との潜在的な不適合性である。提供臓器または組織は異物として宿主免疫系によって認識され、経済的および

身体的に一負担を強いることを承知で、拒絶反応抑制剤を患者に提供する必要がある。

#### 【0004】

異種移植、すなわち、別の種からの組織または臓器の移植は、ヒト臓器および組織の不足を克服するための代替的手段を提供することができる。異種移植は、まだ健康である間に臓器を採取し、さらに移植手術の前に患者に有益な前処理を受けさせることを可能とする移植の一步進んだ計画を提供するであろう。残念ながら、異種移植は、組織不適合性の問題を克服することはできず、かえって悪化させる。さらには、疾病対策センターによると、有害なウィルスは種の壁を越えるという証拠がある。ブタが臓器および組織のドナーの有望な候補になっているが、ブタからヒトへの複数のウィルスの異種間感染が証明されている。例えば、70人を越えるヒトに感染した致死的结果をもたらす病気である、ヘンドラ(Hendra)ウィルスの発生を阻止するために、100万頭を超えるブタが最近マレーシアで屠殺された(Butler, D., Nature (1999) 398: 549)。

#### 【0005】

##### 幹細胞：定義および使用

従って、移植のための臓器および組織の最も有望な供給源は、幹細胞技術の開発にある。理論的に、幹細胞は自己再生細胞分裂を受けて、無期限の間、表現型および遺伝子型において同一である娘細胞を生じさせることができ、最終的に、少なくとも1つの確定的な細胞型に分化することができる。患者自身の幹細胞から組織または臓器を発生させることによって、あるいはレシピエントの免疫系が異物として認識しないように異種細胞を遺伝子組換えすることによって、付随する感染または組織拒絶の危険無しに、異種移植に関連した利点を提供するように移植組織を作成することができる。

#### 【0006】

また、幹細胞は、遺伝子治療の結果を改善する可能性をもたらす。患者自身の幹細胞をインビトロで遺伝子組換えし、インビボで再導入して、所望の遺伝子産物を産生させることができる。それら遺伝子操作幹細胞は、体の特定部位での移植のためまたは全身的適用のために多数の細胞型を形成するように分化誘導され

る能力を有するであろう。あるいは、レシピエントの主要組織適合遺伝子複合体（MHC）抗原を発現するように、またはMHCを全く発現しないように、異種幹細胞を遺伝子操作して、付随の拒絶の危険無しに、レシピエントにドナーからのそれら細胞の移植を可能とすることができる。

#### 【0007】

##### 発明の概要

本発明は、表面抗原CD44、CD45、ならびにHLAクラスIおよびII陰性である単離された多能性哺乳類幹細胞を提供する。また、細胞は、表面抗原CD34、Muc18、Stro-1、HLAクラスI陰性であり、かつOct3/4 mRNA陽性あつて差し支えなく、さらにhTERT mRNA陽性であつて差し支えない。特に、本発明の細胞は、表面抗原CD31、CD34、CD36、CD38、CD45、CD50、CD62EおよびCD62P、HLA-DR、Muc18、Stro-1、cKit、Tie/Tec、CD44、HLAクラスI、ならびに2-ミクログロブリン陰性であり、かつCD10、CD13、CD49b、CD49e、CDw90、Flk1、EDF-R、TGF-R1およびTGF-R2、BMP-R1A、PDGF-R1aおよびPDGF-R1b陽性であつて差し支えない。本発明は、転写因子Oct3/4、REX-1、およびROX-1を発現する、単離された、多能性で非胚性である、非生殖細胞系の細胞を提供する。また、成長因子LIFに反応しかつLIFに対するレセプターを有する出生後の哺乳動物由来の単離された多能性細胞を提供する。

#### 【0008】

##### 発明の詳細な説明

ある系統に拘束された幹細胞が「クローニングプロセス」または「トランス分化」において生じるのと類似の遺伝的再プログラミングを受ける能力を有するか否かは分かっていない。本発明は、多様な臓器（例えば骨髄、肝臓、脳）に発生した後でさえ、それら臓器から精製し、さらにインビトロで培養した場合に残存する多能性幹細胞は、明らかな老化無しに増殖することができ、さらに、その幹細胞が由来する組織とは異なる多様な細胞型に分化することができることを示している。「柔軟性」を有する様々な臓器由来の幹細胞の表現型は類似している。

(CD45<sup>-</sup> CD44<sup>-</sup> HLA<sup>-</sup> DR<sup>-</sup> HLAクラスI<sup>-</sup> oct3/4 mRNA<sup>+</sup> およびhTERT<sup>+</sup>)。さらには、そのような幹細胞の特徴は、例えば、始原生殖細胞（幹細胞がその直接の子孫であって差し支えない）の特徴に類似する。

#### 【0009】

本発明は、骨髄細胞の小さな画分、ならびに脳および肝臓中の細胞が、通常、ESおよびEG細胞でのみ認められる遺伝子（oct-4、Rex-1）を発現することの証拠を有する。さらには、本発明は、oct-4/eGFP構成物に関して形質転換した新生マウスの骨髄および脳においてeGFP<sup>+</sup>細胞を検出し、さらに、oct-4発現細胞が、後胚期の生殖細胞以外の組織に存在することを示している。従って、少数の幹細胞が成人してからもずっと残存し、多能性を有する様々な臓器中において生存している。

#### 【0010】

##### 実施例

##### 実施例1. 骨髄単核細胞からのMASSCsの単離

80人を越えるボランティアの後部腸骨稜から吸引した骨髄から骨髄単核細胞を得た。

#### 【0011】

##### 実施例2. MASSCsの分化

骨芽細胞分化を誘導するために、無血清培地に $10^{-7}$  Mのデキサメタゾン、10 mMのアスコルビン酸、および10 mMのグリセロホスフェートを補足した。骨芽細胞分化は、骨発生に比較的特異的である、カルシウムの無機物化、アルカリホスファターゼ発現、ならびに骨シアリルタンパク質、オステオポンチン、オステオカルシンおよびオステオネクチンの産生の検出によって確認した（図7を参照）。

#### 【0012】

軟骨分化を誘導するために、以前記載したように、無血清培地に、100 ng/mlのTGF-1（P & D Systems, Minneapolis, MN）を補足した。分化軟骨細胞を作成する両方の方法を用いて、フィブロネクチンに接着している間に、または件濁培養において、細胞を分化誘導させた。軟骨細胞を形成する分化は、II型コ

ラーゲン、ならびにグリコサミノグリカンアグリカンの検出によって確認した（図7を参照）。

### 【0013】

含脂肪細胞分化を誘導するために、 $10^{-7}$  Mデキサメタゾンおよび $100 \mu\text{g/ml}$ インシュリンを培地に添加した。また、無血清培地を20%ウマ血清含有培地に置き換えることによって、含脂肪細胞分化を誘導した。含脂肪細胞分化は、LPLおよびaP2の検出によって検出した。

### 【図面の簡単な説明】

#### 【図1】

図1は、本発明の未分化MA S C sの写真である。

#### 【図2】

図2は、培養におけるMA S C sの増殖速度を示すグラフである。

#### 【図3】

図3は、23および35細胞倍加の間、 $2 \times 10^3$  細胞/ $\text{cm}^2$ の再接種密度で培養した、年齢35歳のドナーからのMA S C sのテロメア長を示す。

#### 【図4】

図4は、本発明のMA S C sのために発明者が用いた培養、形質導入、分化、および分化の確認のための一般的プロトコルを示す。

#### 【図5】

図5は、本発明のMA S C sを分化誘導して、骨芽細胞、軟骨芽細胞(chondroblasts)、および示されたような含脂肪細胞を形成するために本発明者が用いた分化プロトコルを示す。

#### 【図6】

図6は、 $10^{-7}$  Mデキサメタゾン、 $\beta$ -グリセロホスフェート、および $10 \text{ mM}$ のアスコルビン酸で誘導した後、培養15日目の骨シアリルタンパク質の免疫組織染色、ならびに7、11、および14日目の骨シアリルタンパク質のウェスタンブロット分析を示す。

#### 【図7】

図7は、筋肉タンパク質のウェスタンブロットを示す。

## 【図8】

図8は、多核管状筋細胞を形成するための筋芽細胞と管状筋細胞との融合を示す顕微鏡写真である。

## 【図9】

図9は、本発明のMA S C sからの内皮細胞分化を誘導するために本発明において用いられた方法、および内皮細胞分化を検出するために用いられたマーカーを示す。

## 【図10】

図10は、内皮細胞分化を確認するための、フォン・ヴィレブランド因子およびCD34マーカーに関する免疫蛍光染色、ならびに内皮細胞表面レセプターT i e / T e kに関するウェスタンブロット分析の一連の写真を示す。

## 【図11】

図11は、MA S C sをS C F、F l t 3-L、T p o、およびE p oと共に14日間培養し、その後、造血支持フィーダーを用いてS C FおよびE G F含有MA S C培地中において培養することによって、MA S C sが、星状細胞、希突起膠細胞、及び神経細胞に分化することを示す一連の顕微鏡写真である。

## 【図12】

図12は、100ng/mLのb F G Fと共に、フィブロネクチンコートウェル中において、低密度MA S C sを培養した際に、ニューロンが発生することを示す一連の顕微鏡写真である。

## 【図13】

図13は、G F A P、ミエリン塩基性タンパク質(M B P)、およびニューロフィラメントに関するR T-P C Rの結果およびウェスタンブロット分析を示す。

## 【図14】

図14は、MA S C sからの神経発生に対する、100ng/mLのb F G F、あるいは10ng/mLのF G F-9、F G F-8、F G F-10、F G F-4、B D N F、G D N F、またはC N T Fの影響を示す。

## 【図15】



図15は、ウィスターラットの脳において中大脳動脈の結紮によって生じさせた頭頂梗塞の周りへの未分化MASCsの移植の効果を示す。

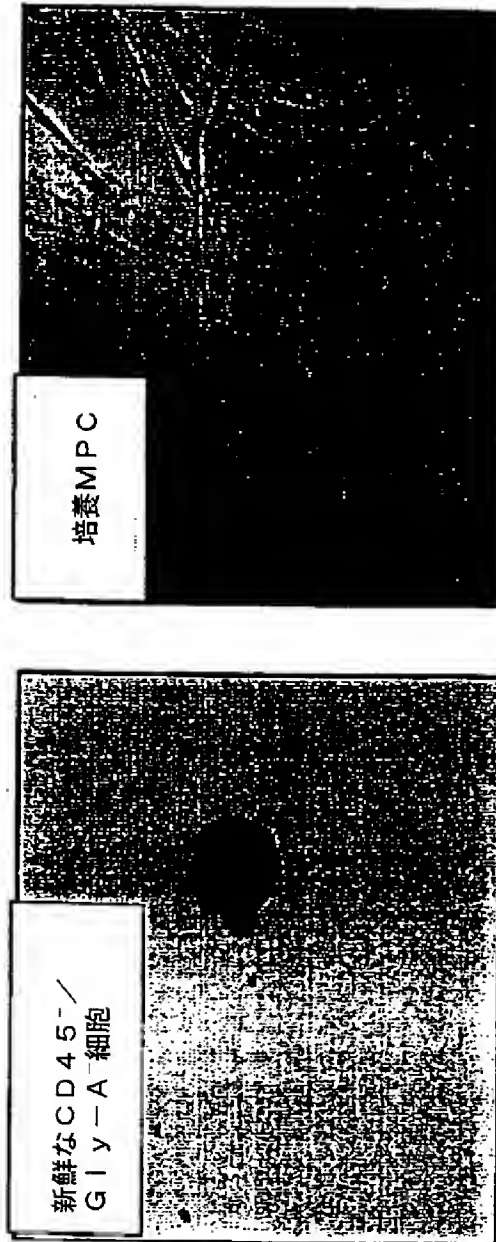
【図16】

図16は、ウィスターラットの脳において中大脳動脈の結紮によって生じさせた頭頂梗塞の周りへの未分化MASCsの移植の効果を示す。

【図17】

図17は、HGFおよびKGFでMASCsを処理した後の、サイトケラチン18および19に関する免疫組織化学分析およびウェスタンブロット分析を示す。

【図1】



【図2】

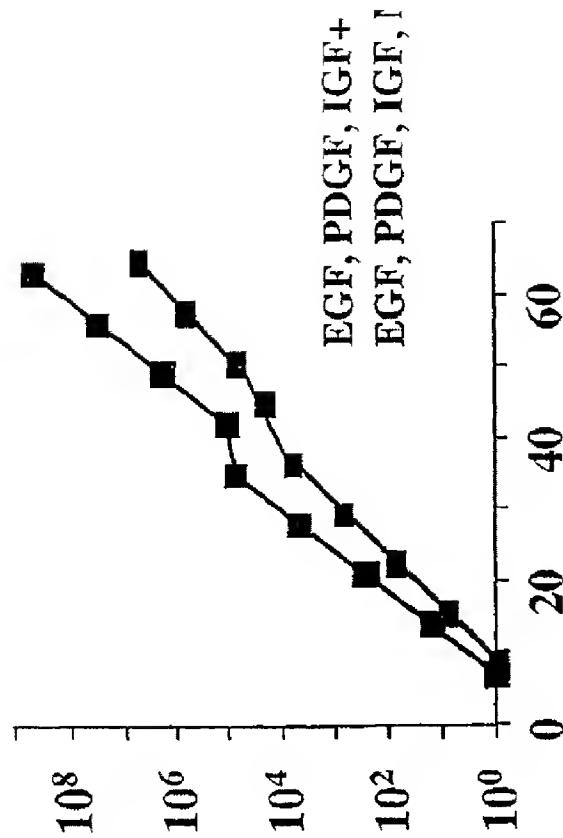
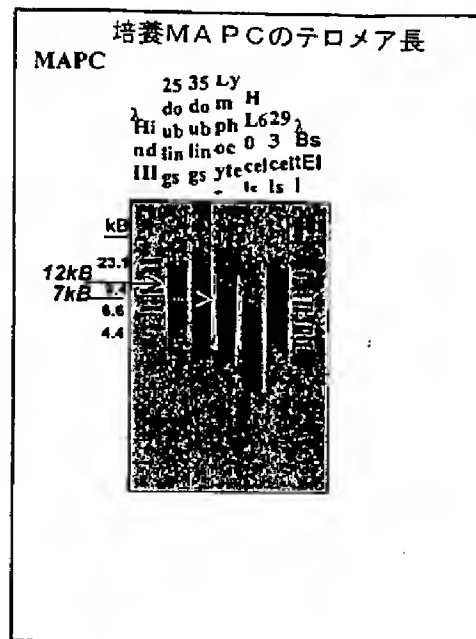
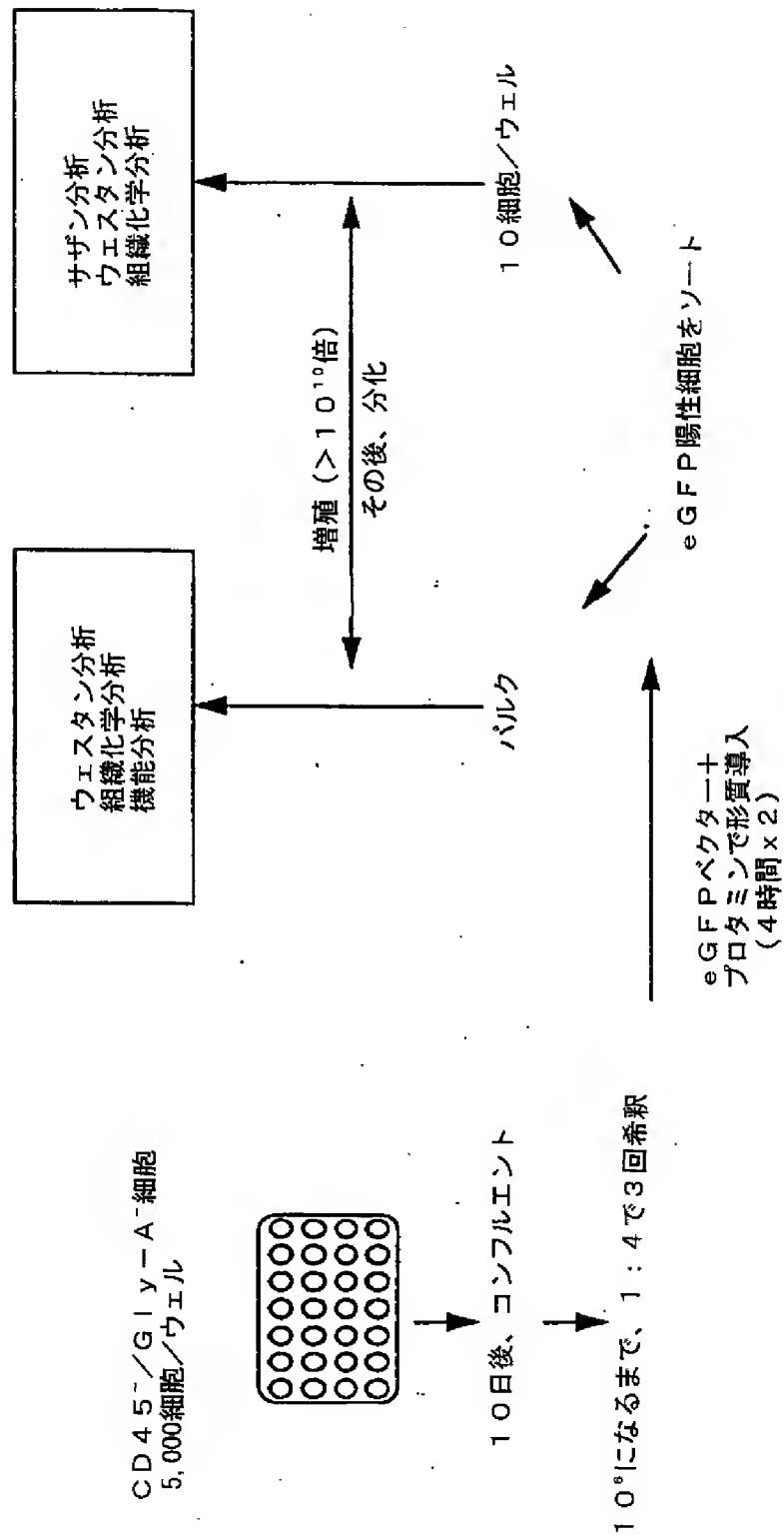


FIG. 2

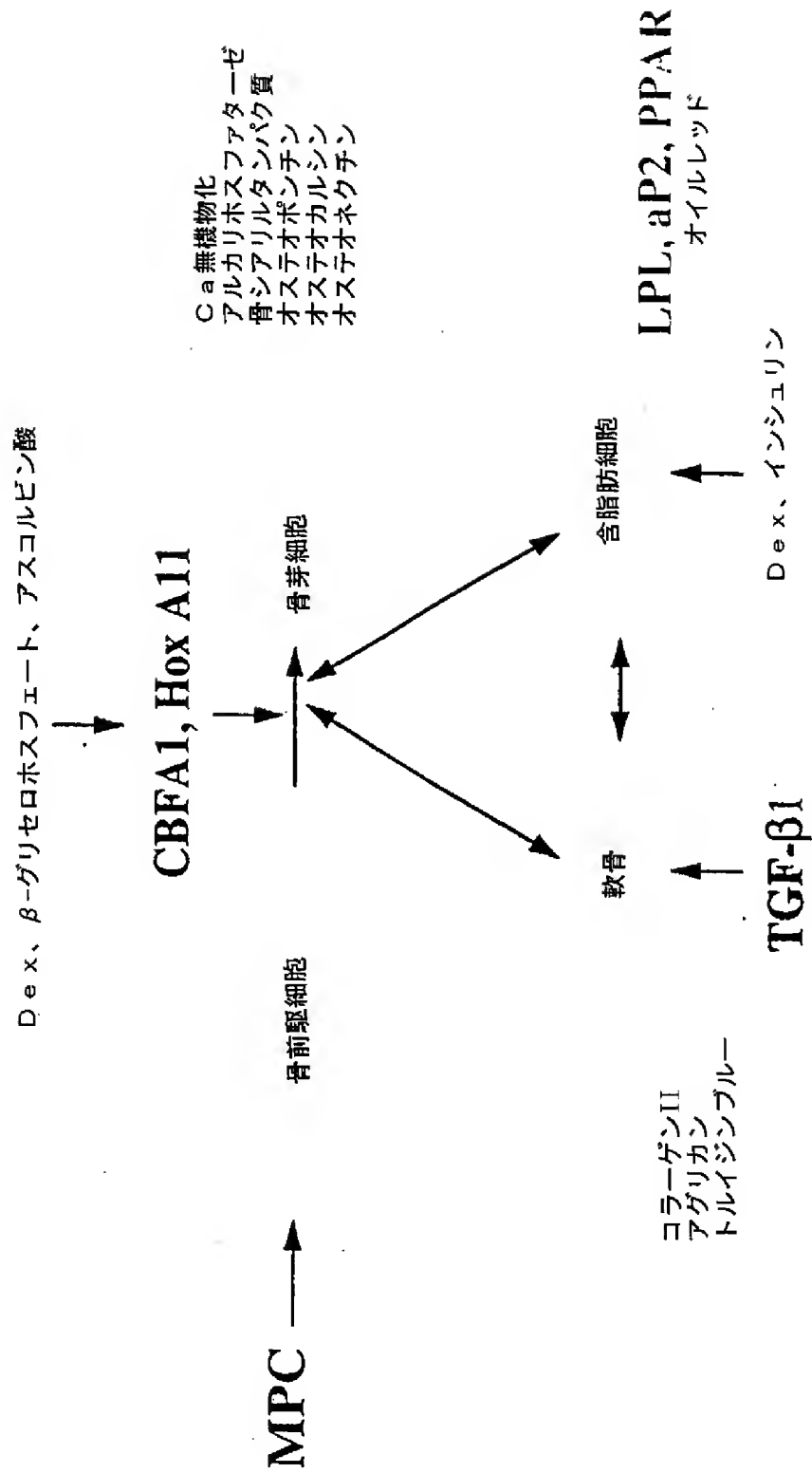
【図3】



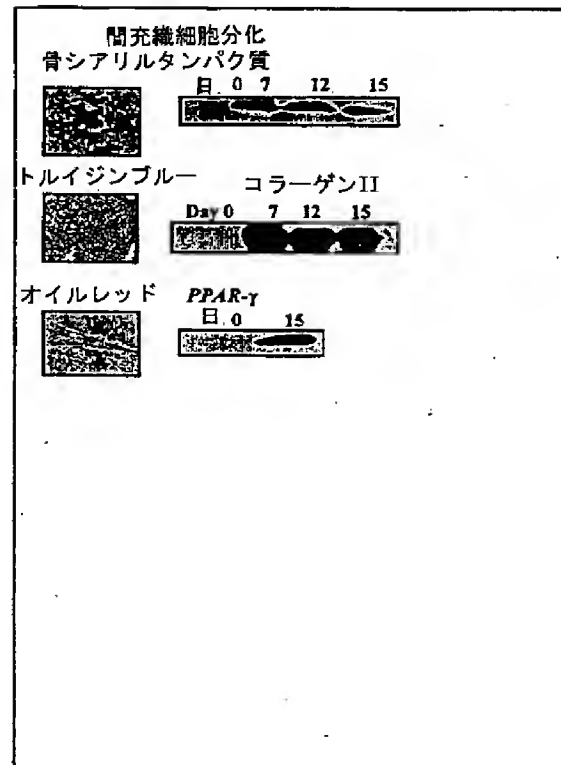
【図4】



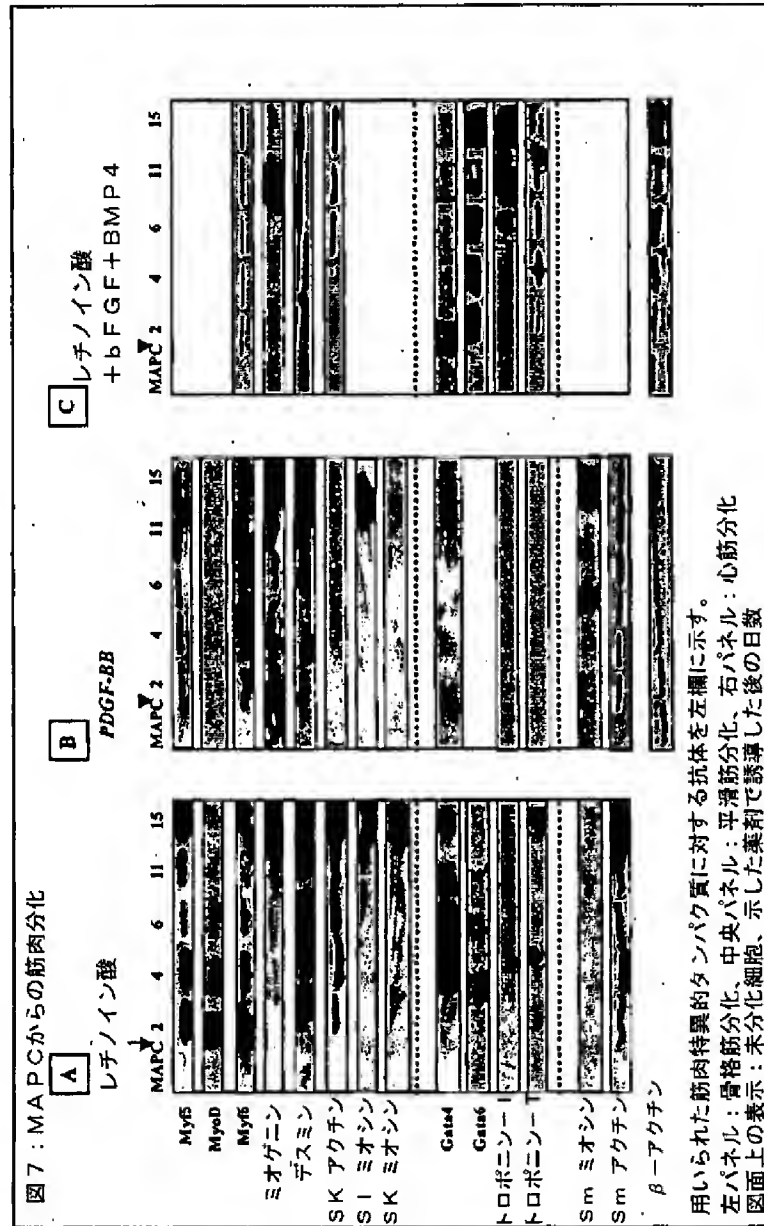
【図5】



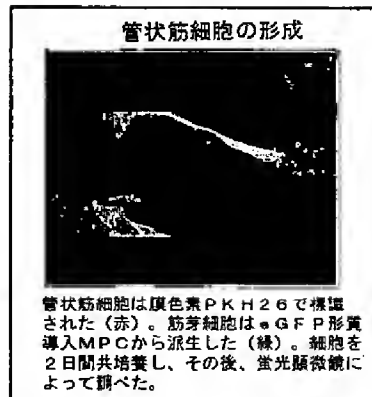
【図6】



【図7】

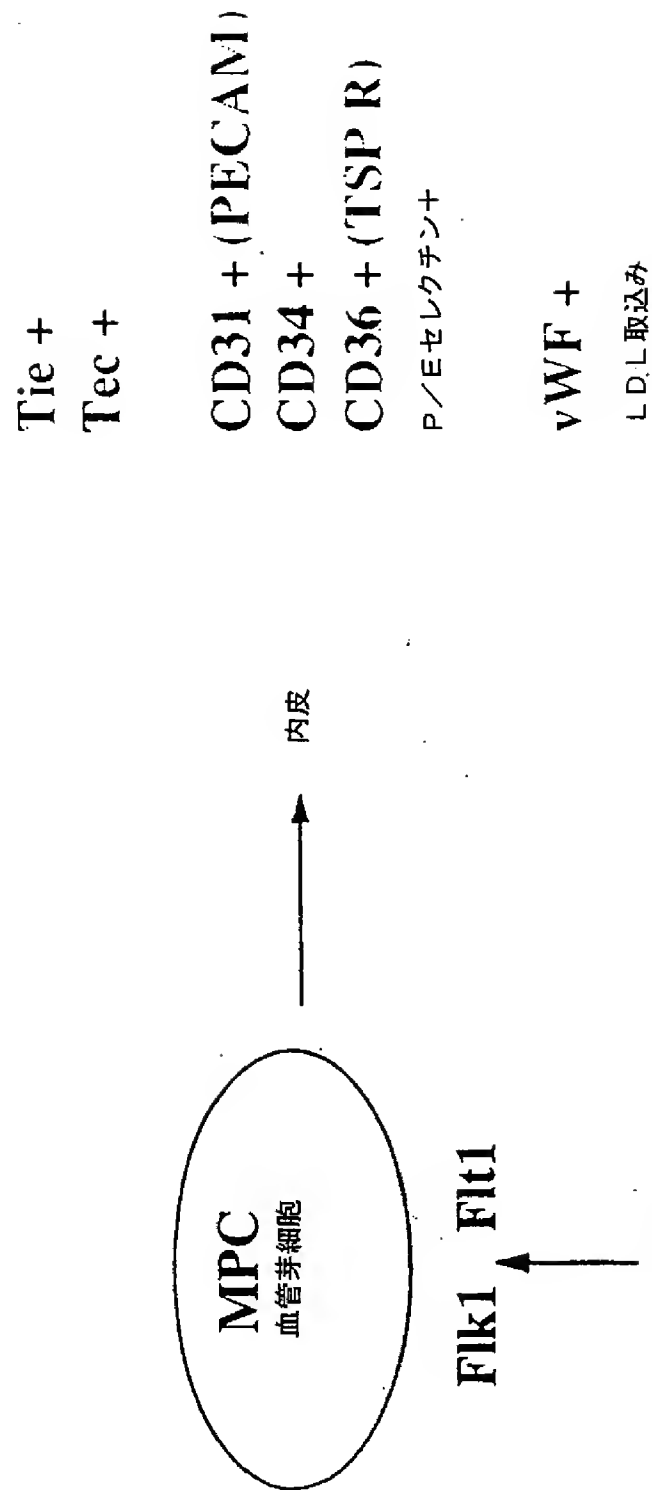


【図8】

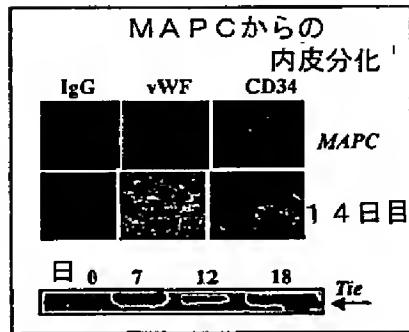




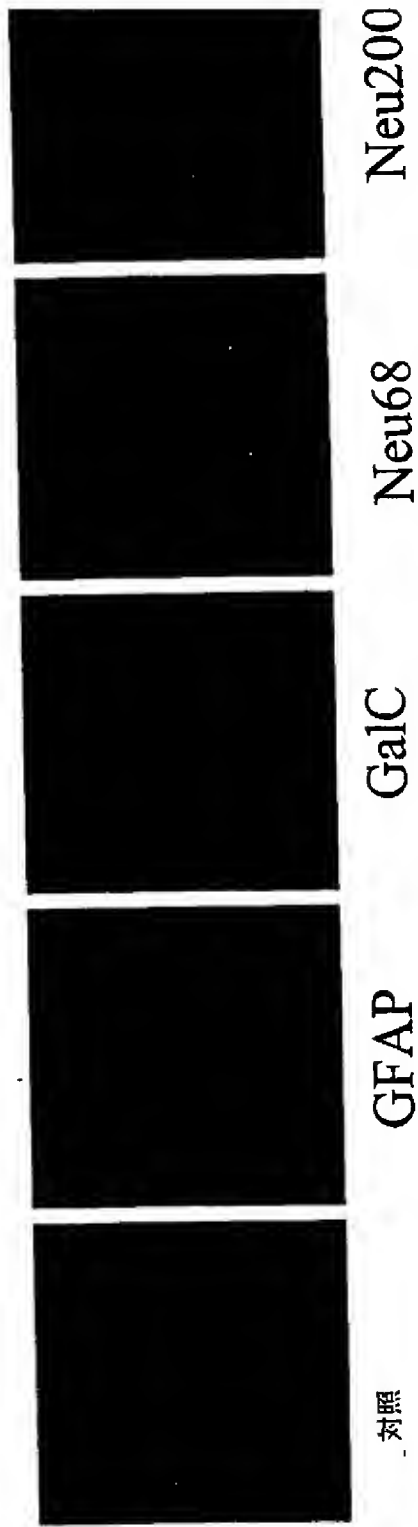
【図9】



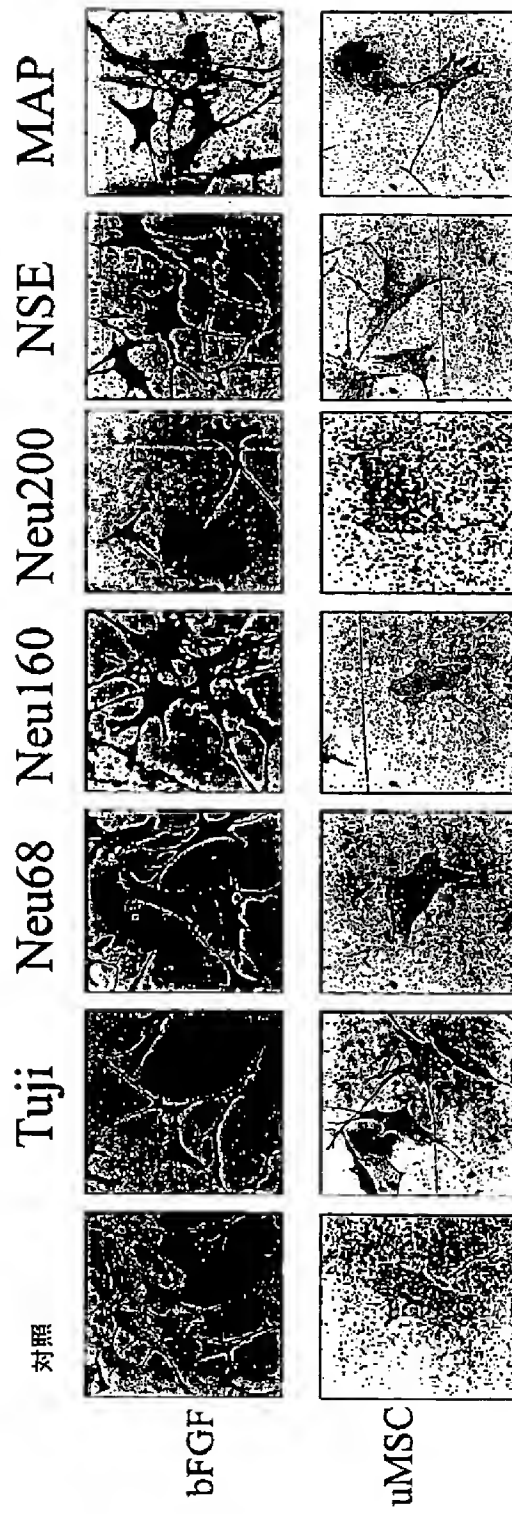
【図10】



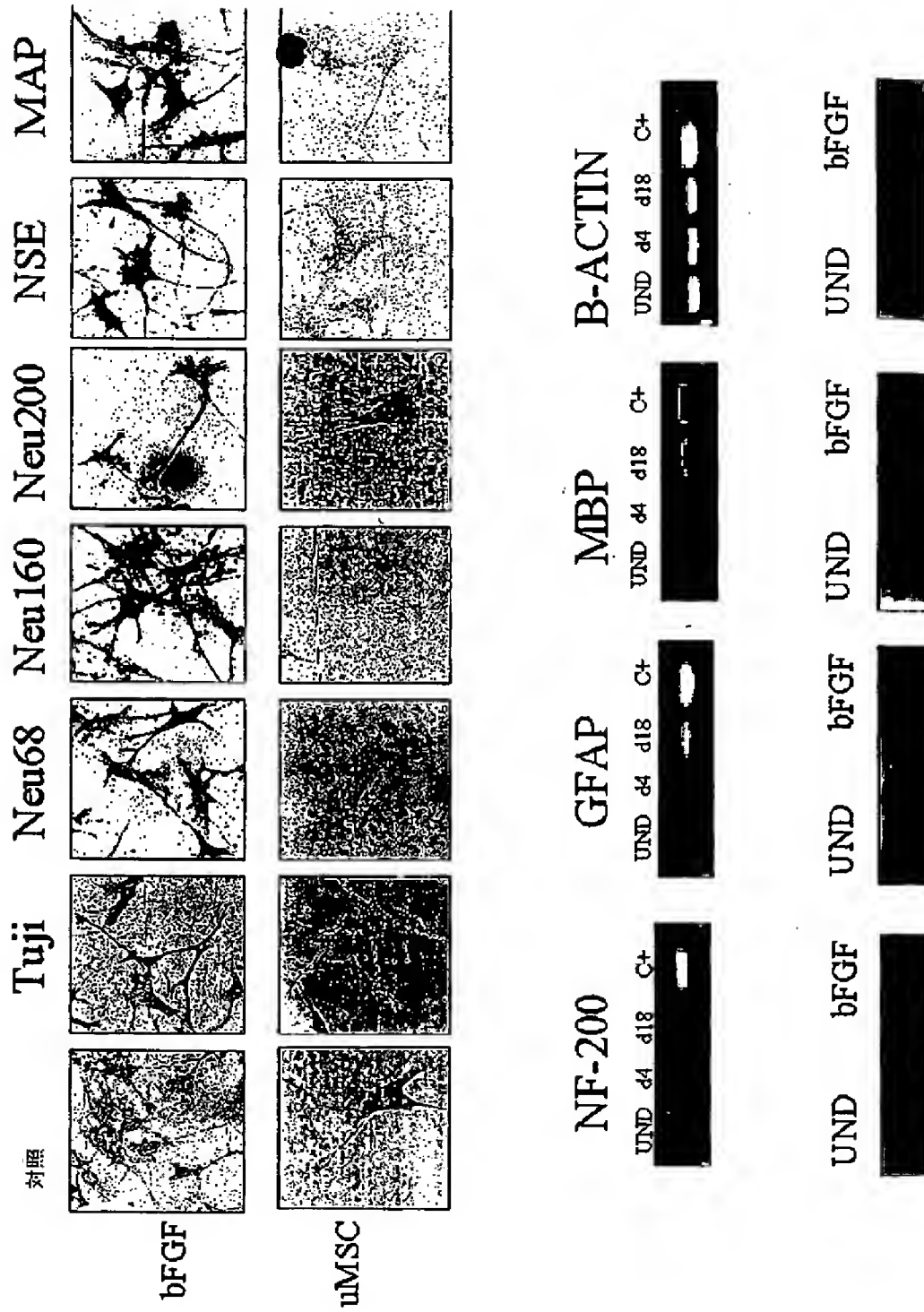
【図11】



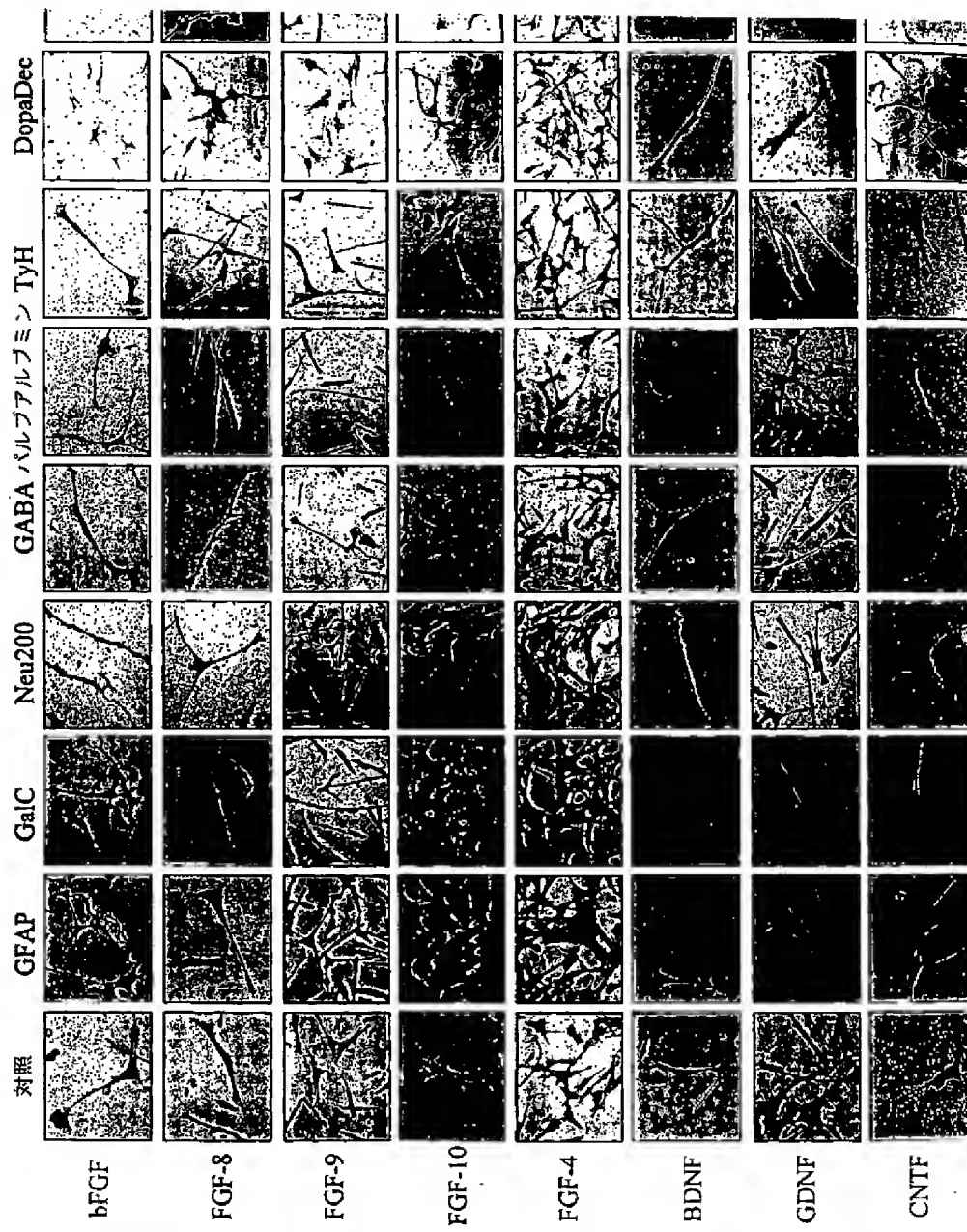
【図12】



【図13】

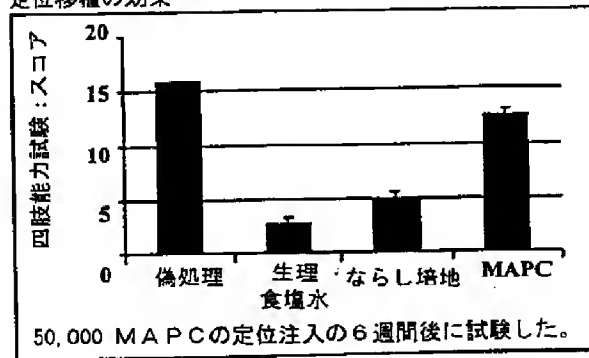


【図14】



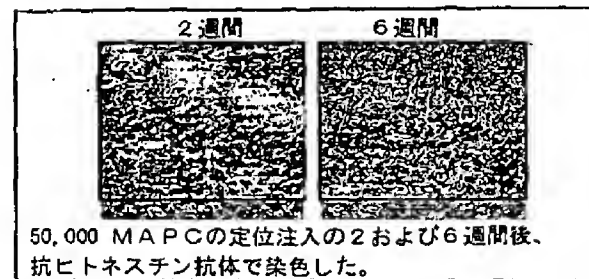
【図15】

梗塞を生じさせたラット脳におけるMAPCの  
定位置植の効果

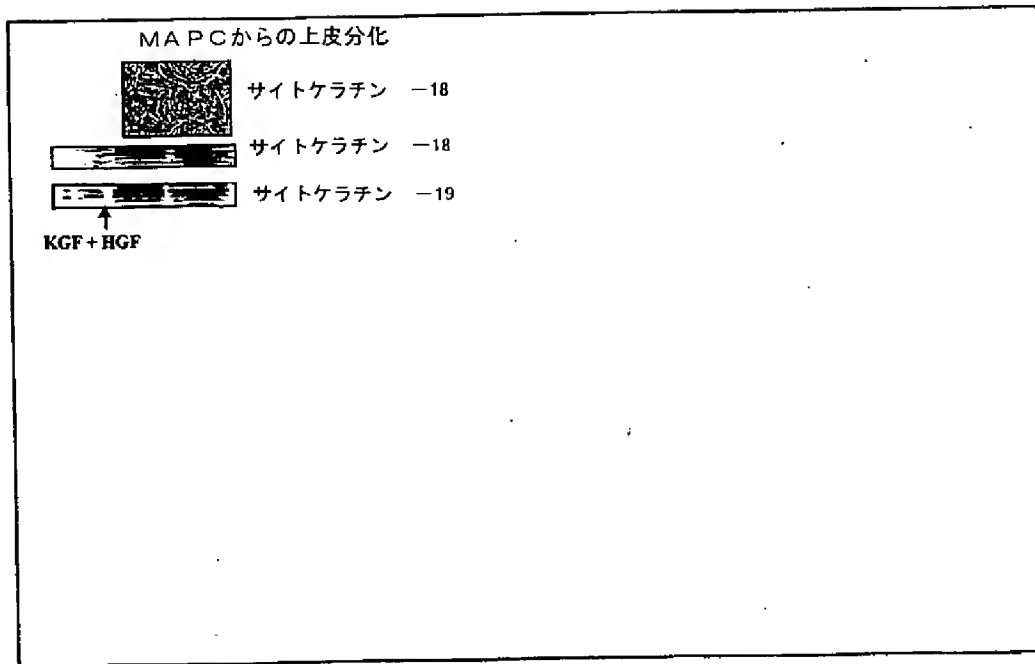


【図16】

梗塞を生じさせたラット脳におけるMAPCの  
定位置植の効果



【図17】





## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No.  
PCT/US 00/21387

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C12N5/06 A61P35/00 A61K48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C12N A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, SCISEARCH, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOTECHNOLOGY ABS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 95 10599 A (BRANDON MALCOLM ROY ; WILLIAMS ROBERT LINDSAY (AU); UNIV MELBOURNE) 20 April 1995 (1995-04-20) page 12; table 1	1-3, 8-30, 50-60
X	ROSFJORD EDWARD ET AL: "The octamer motif present in the Rex-1 promoter binds Oct-1 and Oct-3 expressed by EC cells and ES cells." BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 203, no. 3, 1994, pages 1795-1802, XP000979460 ISSN: 0006-291X	1-3
A	page 1797, last paragraph -page 1798, paragraph 1; figure 1B -- -/-	6

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle of theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 February 2001

Date of mailing of the international search report

21/02/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. 5518 Patentean 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

ALCONADA RODRIG., A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. National Application No.  
PCT/US 00/21387

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HILTON D J ET AL: "DISTRIBUTION AND COMPARISON OF RECEPTORS FOR LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR ON MURINE HEMOPOIETIC AND HEPATIC CELLS" JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY, vol. 146, no. 2, 1991, pages 207-215, XP000981564 ISSN: 0021-9541	7-17, 20-30, 50-60, 62
Y	figures 1,4,6; tables 1,3	18
X	ROSNER M H ET AL: "OCT-3 IS A MATERNAL FACTOR REQUIRED FOR THE FIRST MOUSE EMBRYONIC DIVISION" CELL, vol. 64, no. 6, 1991, pages 1103-1110, XP000979417 ISSN: 0092-8674 page 1104, left-hand column, last paragraph -page 1105, right-hand column, paragraph 1; figure 2	31
X	WO 95 03062 A (CELLPRO INC) 2 February 1995 (1995-02-02) claims 1,2	32,33, 46,48
Y	page 8, line 6-14	34,35
X	CA 2 191 655 A (STEMCELL TECHNOLOGIES INC) 2 June 1997 (1997-06-02)	32,33,46
Y	page 6, line 16-30 page 19, line 6 -page 23, line 31	34,35
Y	CASSIEDE PIERRE ET AL: "Osteochondrogenic potential of marrow mesenchymal progenitor cells exposed to TGF-beta-1 or PDGF-BB as assayed in vivo and in vitro." JOURNAL OF BONE AND MINERAL RESEARCH, vol. 11, no. 9, 1996, pages 1264-1273, XP000981538 ISSN: 0884-0431 figures 2,3; tables 1,2	34
X	US 5 635 386 A (ARMSTRONG R DOUGLAS ET AL) 3 June 1997 (1997-06-03)	36,38-44
Y	column 8, line 7-18 column 13, second table see OTHER COMPONENTS column 9, line 8-24	35,37,45
X	WO 99 35243 A (BEACH DAVID H ;WANG JING (US); COLD SPRING HARBOR LAB (US); HANNON) 15 July 1999 (1999-07-15) claims 1-4,14-18	47
	--- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.  
PCT/US 00/21387

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 627 487 A (IMMUNEX CORP) 7 December 1994 (1994-12-07)	49
Y	page 4, line 11-20 page 5, line 57,58	18
Y	LENNON DONALD P ET AL: "A chemically defined medium supports in vitro proliferation and maintains the osteochondral potential of rat marrow-derived mesenchymal stem cells." EXPERIMENTAL CELL RESEARCH, vol. 219, no. 1, 1995, pages 211-222, XP000981537 ISSN: 0014-4827 the whole document	37
Y	WO 99 11758 A (CARPENTER MELISSA ;CYTOTHERAPEUTICS INC (US)) 11 March 1999 (1999-03-11) page 5, line 5-8 page 5, line 21 -page 6, line 9 page 9, line 19-29 example 1	45
A	PITTENGER M F ET AL: "MULTILINEAGE POTENTIAL OF ADULT HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS" SCIENCE,US,AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, vol. 284, no. 5411, 2 April 1999 (1999-04-02), pages 143-147, XP000867221 ISSN: 0036-8075 cited in the application the whole document	1-5
A	BEN-SHUSHAN ETTI ET AL: "Rex1, a gene encoding a transcription factor expressed in the early embryo, is regulated via Oct-3/4 and Oct-6 binding to an octamer site and a novel protein, Rox-1, binding to an adjacent site." MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, vol. 18, no. 4, April 1998 (1998-04), pages 1865-1878, XP002159568 ISSN: 0270-7306 page 1868, right-hand column, paragraph 2; figure 2 abstract	6

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. National Application No.  
PCT/US 00/21387

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RAPTIS A ET AL: "Polymorphism in CD33 and CD34 genes: A source of minor histocompatibility antigens on haemopoietic progenitor cells?" BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY, vol. 102, no. 5, 1998, pages 1354-1358, XP000981540 ISSN: 0007-1048 the whole document	61
A	WO 99 27076 A (LORING JEANNE F ;ARC GENOMIC RESEARCH (US)) 3 June 1999 (1999-06-03) page 20, line 4-16	63

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. National Application No.

PCT/US 00/21387

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9510599 A	20-04-1995	AU 7934594 A	04-05-1995
WO 9503062 A	02-02-1995	AU 7404494 A	20-02-1995
CA 2191655 A	02-06-1997	NONE	
US 5635386 A	03-06-1997	US 5399493 A	21-03-1995
		AU 3422893 A	28-07-1993
		WO 9312805 A	08-07-1993
		AU 687674 B	26-02-1998
		AU 5059296 A	11-07-1996
		AU 665525 B	11-01-1996
		AU 9175091 A	22-07-1992
		CA 2100268 A	18-06-1992
		EP 0575350 A	29-12-1993
		JP 11221074 A	17-08-1999
		JP 6505151 T	16-06-1994
		JP 2000189157 A	11-07-2000
		KR 225307 B	15-10-1999
		WO 9211355 A	09-07-1992
		US 5670351 A	23-09-1997
		US 5437994 A	01-08-1995
		US 5670147 A	23-09-1997
		US 5646043 A	08-07-1997
		US 5605822 A	25-02-1997
		AT 148502 T	15-02-1997
		CA 2062741 A	16-12-1990
		DE 69029856 D	13-03-1997
		DE 69029856 T	04-09-1997
		DK 477290 T	21-07-1997
		EP 0477290 A	01-04-1992
		EP 0753574 A	15-01-1997
		ES 2097149 T	01-04-1997
		JP 4506153 T	29-10-1992
		KR 196062 B	15-06-1999
		KR 201662 B	15-06-1999
		KR 201663 B	15-06-1999
		WO 9015877 A	27-12-1990
		US 5459069 A	17-10-1995
		US 5763266 A	09-06-1998
		US 5888807 A	30-03-1999
WO 9935243 A	15-07-1999	AU 2317299 A	26-07-1999
		EP 1045697 A	25-10-2000
EP 0627487 A	07-12-1994	US 5554512 A	10-09-1996
		AU 683472 B	13-11-1997
		AU 6987794 A	20-12-1994
		BR 9407073 A	27-08-1996
		CA 2162397 A	08-12-1994
		CN 1125479 A	26-06-1996
		CZ 9503079 A	16-10-1996
		FI 955646 A	23-01-1996
		HU 74831 A	28-02-1997
		JP 8511251 T	26-11-1996
		NO 954735 A	23-01-1996
		NZ 267541 A	24-06-1997
		PL 311756 A	18-03-1996

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/US 00/21387

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0627487 A		WO 9428391 A	08-12-1994
		US 5843423 A	01-12-1998
		ZA 9403490 A	23-01-1995
		AU 702179 B	18-02-1999
		AU 2098295 A	25-09-1995
		CN 1142247 A	05-02-1997
		EP 0749472 A	27-12-1996
		FI 963373 A	29-08-1996
		NO 963630 A	07-11-1996
		NZ 282999 A	19-12-1997
		WO 9524469 A	14-09-1995
WO 9911758 A	11-03-1999	US 5968829 A	19-10-1999
		AU 9305998 A	22-03-1999
		EP 1007636 A	14-06-2000
		US 6103530 A	15-08-2000
WO 9927076 A	03-06-1999	AU 1704899 A	15-06-1999
		EP 1060244 A	20-12-2000

---

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72)発明者 レイエス, モレイマ

アメリカ合衆国 ミネソタ州 55414 ミ  
ネアポリス トウェンティーナインス ア  
ヴェニュー エスイー 1011 アパートメ  
ント シー

Fターム(参考) 4B065 AA93X AC20 BA21 BA30  
CA44